

# 白蜡虫免疫调节作用试验研究\*

冯颖, 陈晓鸣, 马艳, 何钊

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 国家林业局资源昆虫培育与利用重点实验室, 云南 昆明 650224)

摘要: 对白蜡虫的特异性和非特异性免疫调节功能进行了试验研究, 结果表明: 特异性免疫的血清溶血素试验中, 白蜡虫高剂量组小鼠的溶血素生成量明显高于对照, 淋巴细胞转化增殖试验中, 白蜡虫高剂量组小鼠的淋巴细胞转化增殖明显。非特异性免疫的小鼠碳粒廓清试验、免疫器官的变化未出现阳性结果。试验结果表明白蜡虫对机体的细胞和体液特异性免疫都有提高的作用, 说明白蜡虫具有免疫调节功能, 具有较高的资源开发利用价值。

关键词: 白蜡虫; 免疫调节; 特异性免疫; 血清溶血素试验; 淋巴细胞转化增殖试验

中图分类号: S899.1 文献标识码: A

## Experimental Study on Immunomodulation of White Wax Scale(*Ericerus pela* Chavannes)

FENG Ying, CHEN Xiaoming, MA Yan, HE Zhao

(Research Institute of Resource Insects, CAF, Key Laboratory of Resource Insect Cultivation and Utilization, State Forestry Administration, Kunming 650224, Yunnan, China)

**Abstract** This paper dealt with the immunomodulation tests of white wax scale in specific and unspecific immunity. The result showed that the IgM in high dose group was clearly higher than that of the control in serolysin test. Lymphocyte transformation and propagation in mice were notable in high dose group. The results of carbon clearance test in mice and the weight of immune organ test (unspecific immune tests) were negative. The research results showed that white wax scale could increase the specific humoral and cell immunity ability. Therefore white wax scale has immunomodulation function which could be developed and utilized as health food resource.

**Key words** *Ericerus pela*; immunomodulation; specific immunity; serolysin test; Lymphocyte transformation and propagation test

白蜡虫 (*Ericerus pela* Chavannes) 是我国的传统资源昆虫, 其雄虫分泌的白蜡广泛应用于军工、医药、化妆品、食品等行业, 白蜡还是传统的中药。白蜡虫繁殖力很高, 生物量非常大, 我国的雌成虫和虫卵年生产潜力可达上千吨。我国的白蜡虫研究总体处于世界领先地位, 主要的研究集中在白蜡虫的基础生物学、生态学、以白蜡生产为目的的高效培育等方面, 取得了许多有价值的成果<sup>[1-4]</sup>。在医药研究

上, 主要是在传统利用方面的报道和记载<sup>[5]</sup>。笔者曾对白蜡虫卵及其卵囊的基本营养成分和食用安全性进行了研究, 结果表明, 白蜡虫含有丰富的蛋白质、氨基酸等营养物质, 为实际无毒物质, 无致突变和致畸作用, 食用安全<sup>[6]</sup>。在此基础上, 笔者对白蜡虫的营养保健价值进行了较深入的研究, 对其免疫、抗突变等保健功能进行了试验研究, 本文期望通过对白蜡虫免疫功能研究, 为白蜡虫资源的综合利用

收稿日期: 2005-10-12

基金项目: 国家攻关项目 (2004BA502B04), 云南省科技攻关项目 (2001NG16) 和科技部成果转化项目 (02EIN215301189) 部分研究内容

作者简介: 冯颖 (1960-), 女, 云南昆明人, 研究员, 博士, 首席专家。

\* 动物试验由昆明医学院云南省天然药物物理实验室协助完成, 特此致谢!

提供科学依据,提高白蜡虫资源的综合利用效率。

免疫功能是人的重要功能,与人体健康息息相关。免疫调节功能一直是保健功能和保健食品的研究和开发重点。我国已批准应用的具免疫调节功能的昆虫产品有蚂蚁、冬虫夏草、蝇蛆蛋白等<sup>[7]</sup>。实验研究表明,蚂蚁、黄粉虫 (*Tenebrio molitor* Linnaeus)、家蝇 (*Musca domestica vicina* Macquart) 等都具有较好的免疫调节功能<sup>[8-10]</sup>,但与其他材料相比,昆虫的免疫调节功能研究和相关保健产品开发较少。白蜡虫的免疫调节功能还未见报道。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试样品与剂量设计

供试材料为白蜡虫种虫,采自云南昆明,连枝采下,带回室内,剥下种虫,洗净,55℃下烘干,粉碎后备用。

试验设计低、中、高剂量和对照 4 组,低剂量组 1 g 白蜡虫粉·kg<sup>-1</sup>体质量;中剂量组 2 g 白蜡虫粉·kg<sup>-1</sup>体质量;高剂量组 3 g 白蜡虫粉·kg<sup>-1</sup>体质量;空白对照组喂饲普通饲料(全价营养饲料)。各剂量组饲料分别混匀加水后制成小饼干,50~60℃烘干备用。

### 1.2 试验动物与饲养方法

供试动物为健康未交配 ICR 小鼠,体质量 18~22 g 由昆明医学院实验动物中心提供(合格证号:滇实动证 2004010 号)。试验采用屏障环境条件,室内温度 20~26℃,相对湿度 40%~70%,光照昼夜交替 12 h/12 h,自由饮用高压灭菌水。

每天清晨喂饲各剂量组动物白蜡虫粉混合饲料 10 g·kg<sup>-1</sup>体质量,待吃完后,下午再给予普通饲料,空白对照组仅喂饲普通饲料,连续喂饲 30 d 每 3 d 称量体质量 1 次,根据体质量变化调整白蜡虫粉混合饲料量,30 d 后分别进行以下试验。

### 1.3 小鼠碳粒廓清试验

试验小鼠 40 只,雌雄各半,分为空白对照组、白蜡虫粉低、中、高剂量组等 4 组,每组 10 只,连续喂饲 30 d 后,以 0.1 mL·(10 g)<sup>-1</sup>体质量静脉注射印度墨汁,分别在注射后 2、10 min 从眼眶静脉丛取血 20 μL 加入到 2 mL 0.1% NaCO<sub>3</sub> 溶液中,以 NaCO<sub>3</sub> 作空白,600 nm 波长比色测 OD 值,并取肝、脾称质量。计算吞噬指数(K)及单核吞噬细胞的吞噬活性(a)。

### 1.4 免疫器官质量试验

试验小鼠 40 只,雌雄各半,分为空白对照组、白

蜡虫粉低、中、高剂量组共 4 组,每组 10 只,连续喂饲 30 d 后处死动物,分别取脾脏和胸腺称质量并计算其脏/体比,观察白蜡虫对免疫器官的影响。

### 1.5 血清溶血素测定

试验小鼠 40 只,雌雄各半,分为空白对照组、白蜡虫粉低、中、高剂量组共 4 组,每组 10 只,连续喂饲 30 d 后,用经生理盐水洗涤并配成 20% (V/V) 的绵羊红细胞 SRBC 悬液,以每只小鼠腹腔注射 0.2 mL,免疫 4 d 后眼眶静脉丛取血,分离血清,按常规方法试验操作,540 nm 波长比色,测定 OD 值和计算 HC<sub>50</sub>。

### 1.6 淋巴细胞转化增殖试验

试验小鼠 40 只,雌雄各半,分为空白对照组、白蜡虫粉低、中、高剂量组共 4 组,每组 10 只,连续喂饲 30 d 后处死动物。取脾脏分离脾细胞制成 2×10<sup>6</sup>个·mL<sup>-1</sup>的细胞悬液加入 96 孔板中,分别设细胞空白对照组和细胞加 ConA 组,置于 5% CO<sub>2</sub>、37℃ 孵育箱中培养 72 h 后按常规方法试验操作,用酶联免疫检测仪以 570 nm 波长测定 OD 值。OD 值高则反应细胞增殖多,细胞免疫反应增强。

## 2 结果与分析

### 2.1 小鼠碳粒廓清试验

小鼠碳粒廓清试验是检验机体非特异性免疫的方法之一,在试验中,印度墨汁为一种外来的抗原,经静脉注射进入到小鼠血液循环后,墨汁碳颗粒便会被单核吞噬细胞所清除。血液中碳颗粒的清除率可反映单核吞噬细胞的吞噬功能,吞噬指数越高,单核吞噬细胞的吞噬功能越强<sup>[7,11-14]</sup>。从表 1 看出,在低、中、高剂量组,动物的吞噬活性、吞噬指数与对照组相比,没有明显的差异和剂量关系,说明在试验剂量条件下,白蜡虫无非特异性免疫作用。

表 1 白蜡虫粉对小鼠碳粒廓清的影响( $\bar{x} \pm SD$ )

组别	剂量 / (g·kg <sup>-1</sup> )	小鼠数 / 只	吞噬活性 / (a)	吞噬指数 / (K)
对照组	-	10	4.73 ± 1.50	0.016 ± 0.009
低剂量组	1	10	5.41 ± 1.31	0.037 ± 0.002
中剂量组	2	10	4.75 ± 1.06	0.020 ± 0.007
高剂量组	3	10	5.07 ± 1.45	0.017 ± 0.008

注:各组间无显著性差异( $P > 0.05$ )

### 2.2 免疫器官质量试验

免疫器官一般随年龄的增长而质量下降,而影响免疫能力,因此免疫器官的质量是非特异性免疫

功能的一个指标<sup>[7, 11-14]</sup>。由表 2 结果可见,雌雄小鼠在不同剂量组的试验中,免疫器官质量没有明显的增加,说明白蜡虫没有增加免疫器官质量的功能。

表 2 白蜡虫粉对小鼠免疫器官质量及脏/体比的影响( $\bar{x} \pm SD$ )

组别	性别	胸腺质量/g	胸腺系数/%	脾脏质量/g	脾脏系数/%
对照组	♀	0.078 ± 0.03	0.26 ± 0.08	0.12 ± 0.01	0.39 ± 0.05
低剂量组	♀	0.065 ± 0.02	0.21 ± 0.06	0.14 ± 0.03	0.44 ± 0.09
中剂量组	♀	0.071 ± 0.02	0.22 ± 0.06	0.14 ± 0.02	0.43 ± 0.03
高剂量组	♀	0.078 ± 0.02	0.26 ± 0.07	0.13 ± 0.01	0.44 ± 0.04
对照组	♂	0.058 ± 0.01	0.16 ± 0.03	0.13 ± 0.01	0.35 ± 0.04
低剂量组	♂	0.061 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.35 ± 0.05
中剂量组	♂	0.046 ± 0.01	0.13 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.33 ± 0.06
高剂量组	♂	0.047 ± 0.01	0.13 ± 0.03	0.13 ± 0.01	0.36 ± 0.05

注:各组间无显著性差异( $P > 0.05$ )

### 2.3 血清溶血素测定

当试验小鼠注射绵羊红细胞 SRBC 后, B 淋巴细胞受到抗原 SRBC 的刺激,分化成浆细胞,并产生抗 SRBC 的抗体,也就是溶血素,在补体参与下,溶血素会与抗原结合,发生溶血反应,而释放血红蛋白,血红蛋白含量可反映动物血清中溶血素(IgM)的含量,含量越高则表明免疫应答反应越强,通过测定小鼠血清溶血素的含量,可了解是否产生免疫应答及其强弱<sup>[7, 11-14]</sup>。喂食各剂量白蜡虫粉的小鼠经免疫后的溶血素含量见表 3 和图 1, 从中可见,经喂饲白蜡虫粉后,在低、中、高剂量组,溶血素含量都高于对照组,具有明显的剂量效果关系,高剂量组与低剂量组比较,具有显著性差异。说明白蜡虫具有提高动物清除特异性抗原的能力,小鼠产生了明显的免疫应答反应。

### 2.4 淋巴细胞转化增殖试验

淋巴细胞转化率的高低,反映机体细胞免疫水平的高低<sup>[7, 11-14]</sup>。本试验采用刀豆蛋白 A (ConA) 作为非特异性有丝分裂原,试验结果见表 4 和图 2, 由试验结果中的细胞增殖的差值可见,白蜡虫有 ConA 刺激小鼠 T 淋巴细胞的增殖作用,动物喂食白蜡

表 3 白蜡虫粉对小鼠溶血素生成的影响( $\bar{x} \pm SD$ )

组别	剂量 / (g · kg <sup>-1</sup> )	小鼠数 / 只	OD 值	HC <sub>50</sub>
对照组	-	10	0.37 ± 0.06	223.89 ± 36.33
低剂量组	1	10	0.49 ± 0.06	294.38 ± 37.53
中剂量组	2	10	0.54 ± 0.02	321.32 ± 12.97
高剂量组	3	10	0.58 ± 0.01 <sup>a/b</sup>	349.10 ± 7.1 <sup>a/b</sup>

SRBC 半数溶血时间 OD 值为 0.837, a 与对照组比较差异显著( $P < 0.01$ ); b 与低剂量组比较差异显著( $P < 0.05$ )

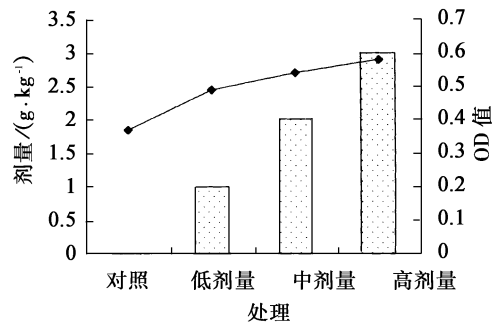


图 1 溶血素含量与白蜡虫剂量的关系

虫后,各剂量组细胞均有增殖,具有剂量效果关系,其中高剂量组与对照和低剂量组比较,有显著的差异性。试验结果说明白蜡虫粉在高剂量组可以显著提高动物的细胞免疫水平,具有调节免疫功能的作用。

表 4 白蜡虫粉对小鼠淋巴细胞增殖的影响( $\bar{x} \pm SD$ )

组别	剂量 / (g · kg <sup>-1</sup> )	小鼠数 / 只	细胞对照	ConA	差值
对照组	-	10	0.206 ± 0.04	0.223 ± 0.04	0.016 ± 0.012
低剂量组	1	10	0.146 ± 0.02	0.167 ± 0.04	0.022 ± 0.023
中剂量组	2	10	0.158 ± 0.03	0.191 ± 0.05	0.033 ± 0.026
高剂量组	3	10	0.22 ± 0.02	0.263 ± 0.03	0.042 ± 0.024 <sup>a/b</sup>

注: a 与对照组比较差异显著( $P < 0.01$ ); b 与低剂量组比较差异显著( $P < 0.05$ )

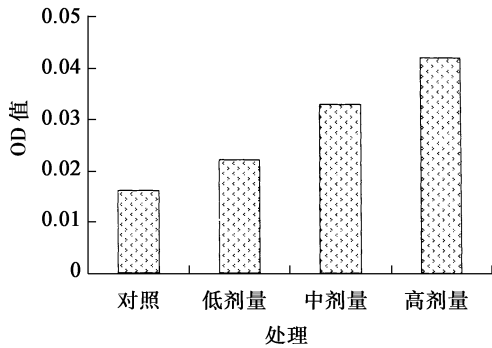


图 2 淋巴细胞转化增殖结果图

在进行的 4 个免疫调节试验中, 非特异性免疫的小鼠碳粒廓清试验、免疫器官的变化未出现阳性结果, 特异性免疫的血清溶血素和淋巴细胞转化增殖试验出现了明显的阳性结果。血清溶血素试验中, 白蜡虫高剂量组小鼠的溶血素生成量明显高于对照, 淋巴细胞转化增殖试验中, 白蜡虫高剂量组小鼠的淋巴细胞转化增殖明显。试验结果表明白蜡虫对机体的细胞特异性免疫和体液的特异性免疫都有提高的作用, 说明白蜡虫具有免疫调节功能。

### 3 讨论

免疫功能是人的抗病能力的一个重要标志, 在人体抗肿瘤、抗衰老等方面具有十分重要的作用。人体的免疫功能可分为特异性免疫和非特异性免疫两种。从机体的免疫反应来分, 又可分为细胞免疫和体液免疫。特异性免疫主要指淋巴细胞的免疫功能, 淋巴细胞对抗原的刺激具有针对性, 仅对特异的抗原免疫应答。非特异性免疫是指对多种抗原的吞噬作用。细胞免疫是指 T 淋巴细胞、自然杀伤细胞等对抗原的抑制和消灭。体液免疫主要指通过浆细胞分泌的免疫球蛋白凝集沉淀和破坏抗原的作用。在对免疫调节功能的保健食品评价时, 要考虑到这几方面的功能, 才能有效地评价其调节免疫的功能<sup>[11-13]</sup>。本研究选择了非特异性免疫的小鼠碳粒廓清试验、免疫器官的变化和特异性免疫的血清溶血素测定、淋巴细胞转化增殖试验等 4 项进行试验。试验结果表明白蜡虫无非特异性免疫调节作用, 但对细胞特异性免疫和体液的特异性免疫都有提高的作用, 可以作为营养保健的食品资源开发利用。

在保健食品的研发中, 开发具有调节人体免疫能力的功能食品是一个研究热点。调节免疫功能的保健食品应该是使人体免疫功能处于正常工作状态的营养食品。我国研发的具有免疫调节的昆虫类产品中, 主要有蚂蚁、蜂王浆、虫草、蜂胶、蝇蛆蛋白、雄蚕蛾、蚕蛹等。其主要的功能因子有蝇蛆蛋白、免疫球蛋白、金属硫蛋白、酶解卵蛋白、真菌多糖、壳聚糖、甲壳素、蛋黄卵磷脂、大豆磷脂、胡萝卜素、硒等<sup>[7 15-17]</sup>。成分分析和研究表明, 白蜡虫卵和卵囊含有 45.11% 的蛋白质, 2% 的几丁质, 7% 的粗多糖, 9.22% 的卵磷脂, 这些物质应该是白蜡虫提高人体免疫调节功能的主要活性成分。

### 参考文献:

- [1] 吴次彬. 白蜡虫及白蜡生产 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1989
- [2] 陈晓鸣, 陈勇, 叶寿德, 等. 白蜡虫在寄主植物上的分布特征研究 [J]. 林业科学研究, 1997, 10(4): 415~419
- [3] 陈晓鸣, 王自力, 叶寿德, 等. 白蜡虫泌蜡研究 I 不同地理种源泌蜡比较 [J]. 林业科学研究, 1998, 11(1): 35~38
- [4] 陈勇, 陈晓鸣, 王自力, 等. 白蜡虫泌蜡研究 II 不同寄主植物上泌蜡比较 [J]. 林业科学研究, 1998, 11(3): 285~288
- [5] 罗天诤. 森林药物资源学 [M]. 北京: 国际文化出版公司, 1994 559
- [6] 冯颖, 陈晓鸣, 陈勇, 等. 白蜡虫卵营养价值与食用安全性研究 [J]. 林业科学院研究, 2001, 14(3): 322~327
- [7] 凌关庭. 保健食品功能评价 (七) [J]. 粮食与油脂, 2001(12): 45~46
- [8] 吴志成, 吴斌. 可食用蚂蚁是人类健康的瑰宝 [J]. 昆虫知识, 1997, 34(5): 305~306
- [9] 雷朝亮, 宗良炳, 牛长缨, 等. 蝇蛆营养活性粉保健功能的评价 [J]. 华中农业大学学报, 1998, 17(2): 138~142
- [10] 杨兆芬, 林跃鑫, 陈寅山, 等. 黄粉虫幼虫营养成分分析和保健功能的实验研究 [J]. 昆虫知识, 1999, 36(2): 97~100
- [11] 周俭. 保健食品设计原理及其应用 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998
- [12] 郑建仙. 功能性食品 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1995
- [13] 金宗濂. 保健食品的功能评价与开发 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001
- [14] 司传平. 医学免疫学实验 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999
- [15] 刘绍, 谢达平, 王燕玲, 等. 食品免疫与免疫食品新进展 [J]. 实用预防医学, 2004, 11(3): 635~636
- [16] 阎磊. 食物中增强免疫功能有效成分的研究进展 [J]. 食品工业, 2000(4): 38~39
- [17] 王润田, 单保恩, 李巧露, 等. 黄芪提取物免疫调节活性的体外实验研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2002, 22(6): 453~456